

于可抑制 TBI 后微血栓形成,因而亦有助于减轻继发性脑缺血;但用药时机及是否会诱发或加重出血等问题还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Stein S C, Graham D I, Chen X H, *et al.* Association between intravascular microthrombosis and cerebral ischemia in traumatic brain injury [J]. *Neurosurgery*, 2004, 54 (3): 687-691.
- [2] Bartnik-Olson B L, Oyoyo U, Hovda D A, *et al.* Astrocyte oxidative metabolism and metabolite trafficking after fluid percussion brain injury in adult rats [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27 (12): 2191-2202.
- [3] Smyth S S, Monroe D M 3rd, Wysokinski W E, *et al.* Platelet activation and its patient-specific consequences [J]. *Thromb Res*, 2008, 122 (4): 435-441.
- [4] Blann A D, Draper Z. Platelet activation as a marker of heart attack [J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412 (11-12): 841-842.
- [5] Mahooti S, Graesser D, Patil S, *et al.* PECAM-1 (CD31) expression modulates bleeding time in vivo [J]. *Am J Pathol*, 2000, 157: 75-81.
- [6] Fateh-Moghadam S, Htun P, Tomandl B, *et al.* Hyperresponsiveness of platelets in ischemic stroke [J]. *Thromb Haemost*, 2007, 97 (6): 974-978.
- [7] 张军, 许百男, 李冲, 等. 大鼠侧向液脑损伤后脑血管内血栓形成的实验研究 [J]. *解放军医学杂志*, 2006, 31 (10): 991-993.
- [8] Jacoby R C, Owings J T, Holmes J, *et al.* Platelet activation and function after trauma [J]. *J Trauma*, 2001, 51 (4): 639-647.
- [9] Lu D, Mahmood A, Goussev A, *et al.* Delayed thrombosis after traumatic brain injury in rats [J]. *J Neurotrauma*, 2004, 21 (12): 1756-1766.
- [10] Crockett J, Newman D K, Newman P J. PECAM-1 functions as a negative regulator of laminin-induced platelet activation [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8 (7): 1584-1593.

不同粒径纳米硒化镉对雄性小鼠睾丸损伤的研究

Study of damage effect of different particle size nano-CdSe on testis in male mouse

郝玉兰, 李清钊, 王曼曼, 徐厚君

HAO Yu-lan, LI Qing-zhao, WANG Man-man, XU Hou-jun

(河北联合大学公共卫生学院, 河北 唐山 063000)

摘要: 将 30 只 SPF 级雄性昆明小鼠随机分为对照组、CdSe I 染毒组 (粒径 50 ~ 100 μm)、CdSe II 染毒组 (粒径 40 ~ 50 nm), 每组 10 只。腹腔注射染毒, 两染毒组染毒剂量为 40 mg/kg, 对照组给予等体积的生理盐水, 隔天染毒 30 d 处死, 取睾丸和附睾组织。观察小鼠精子存活率、畸形率及睾丸组织病理学变化。结果显示, 两染毒组精子存活率较对照组均下降, 畸形率上升 ($P < 0.05$), 且 CdSe II 组的精子存活率最低, 畸形率最高。病理学观察显示染毒组小鼠睾丸出现不同程度损伤, 纳米 CdSe II 组小鼠睾丸损伤最为严重。提示纳米硒化镉对雄性小鼠的睾丸组织有严重的损伤作用, 且粒径是决定纳米硒化镉毒性的主要因素, 粒径越小的纳米硒化镉材料的毒性越大。

关键词: 纳米硒化镉; 动物实验模型; 精子; 病理改变

中图分类号: R992 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2013)03-0199-02

纳米硒化镉是目前使用较为广泛的半导体材料, 由于其粒子尺寸接近电子相干长度, 在光吸收、催化和磁性方面性能卓越, 被应用于较常规硒化镉更广泛的领域。众所周知, 镉是常见的重金属, 可以直接诱导睾丸、附睾等组织器官发

生结构和功能上的退行性变化^[1]。所以纳米硒化镉被广泛应用的同时, 它所引起的安全性也不容忽视。以往研究表明, 纳米材料和常规材料在性质上有很大差别, 而且不同粒径纳米材料的毒性可能不同, 研究不同粒径纳米硒化镉雄性生殖毒性具有很重要的意义^[2,3]。本次研究建立不同粒径纳米硒化镉雄性小鼠中毒模型, 观察小鼠精子睾丸病理损伤情况, 探讨不同粒径纳米硒化镉雄性小鼠睾丸组织的损伤影响, 为进一步阐明纳米硒化镉的安全性评价提供资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康清洁级昆明种雄性小鼠 30 只, 购自北京动物实验中心, 动物批号: SCXK (京) 2009-0004, 体重 18 ~ 25 g。硒化镉纳米材料 (由南开大学环境科学与工程学院提供), 纳米硒化镉 I 组粒径为 50 ~ 100 nm (CdSe I), 纳米硒化镉 II 组粒径为 40 ~ 50 nm (CdSe II)。将纳米材料用高温灭菌生理盐水配制制成 4 g/L 溶液, 高压灭菌备用。每次染毒前, 经超声震荡混匀。

1.2 动物模型的建立

实验开始前进行 1 周的适应性饲养, 自由进食饮水, 以 1/20 LD₅₀ 对小鼠进行染毒。小鼠随机分为 3 组, 每组 10 只, 即正常对照组、CdSe I 组 (40 mg/kg)、CdSe II 组 (40 mg/kg)。以 0.1 mg/10 g 对小鼠进行腹腔注射, 隔日 1 次, 染毒 30 d, 对照组给予等量生理盐水。末次染毒 24 h 后, 处死小鼠, 摘眼球取血, 分离小鼠的睾丸及附睾备用。

收稿日期: 2012-09-18; 修回日期: 2013-02-27

基金项目: 唐山市科技计划项目任务书 (12150203A)

作者简介: 郝玉兰 (1978—), 女, 讲师, 从事环境内分泌干扰物方面的研究。

1.3 指标检测

每 10 天测 1 次小鼠体重, 观察其精神、行为和皮毛状态。染毒结束后, 处死小鼠, 取出睾丸, 于 2 ml 生理盐水中剪碎, 吸管吹打 30 次后用 100 目筛网滤掉大块残渣, 适当稀释后用血球计数板计数精子总数。同时每只小鼠检查完整无重叠的精子 200 条, 计数精子成活率 (%)。将上述精子悬液的滤液涂片, 干燥后经甲醇固定, 伊红染色。每只小鼠检查完整无重叠的精子 1 000 条, 计数精子畸形率 (%)。取小鼠睾丸组织, 经固定、脱水、浸蜡包埋后, 沿睾丸纵轴作连续切片, 切片厚度为 3~5 μm。HE 染色后, 在光学显微镜下观察睾丸组织细胞形态学变化。

1.4 统计学方法

实验中所获数据经 Excel 数据库整理后, 使用 SPSS19.0 软件包进行统计分析, 结果采用方差分析和 Dunnett *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳米硒化镉染毒对小鼠精子存活率和畸形率的影响

由表 1 可见, 对照组明显高于各染毒组, 且差异有统计学意义 ($P < 0.05$); CdSe II 组精子存活率低于 CdSe I 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各染毒组精子畸形率均高于

对照组 ($P < 0.05$), CdSe II 组最高, 与 CdSe I 组相比, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 硒化镉染毒对小鼠精子存活率和畸形率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

级别	例数	精子存活率 (%)	精子畸形率 (%)
对照组	10	71.56 ± 10.12	0.38 ± 0.19
CdSe I	10	45.88 ± 12.17	0.23 ± 0.37*
CdSe II	10	32.25 ± 11.39	0.44 ± 0.67* ^Δ

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与纳米 CdSe I 比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.2 各组小鼠睾丸组织病理观察

对照组小鼠睾丸生精小管排列紧密, 结构清晰, 从基底面开始的各级生精细胞排列规则, 可见精原细胞、初级精母细胞、精子细胞等各个发育阶段的细胞, 管腔结构正常, 个别管腔内可见精子。CdSe I 组小鼠睾丸生精小管数量下降, 排列紊乱, 生精小管内的细胞层次减少, 各级生精细胞排列有一定程度的紊乱, 部分管腔内出现空虚, 可见精子坏死。CdSe II 组小鼠睾丸正常组织结构消失, 发生变性坏死, 形成大量无结构红染物质, 其内可见大量破碎细胞核, 周边有肉芽组织增生。见图 1。



图 1 各组小鼠睾丸组织病理观察 (HE, ×100)

3 讨论

纳米硒化镉颗粒 (量子点) 可在人体中分解出镉离子, 可能导致镉中毒, 并且研究表明纳米颗粒越小, 其毒性和反应性越大^[2-4]。镉对睾丸具有明显的毒性作用, 有报道称皮下注射镉后几小时即可出现肉眼可见的改变^[5]。本次实验结果显示, 雄性小鼠进行纳米硒化镉染毒后, 精子存活率下降, 相应畸形率升高, 病理研究发现睾丸出现了不同程度的损伤, 说明纳米硒化镉具有一定的生殖毒性。同时, 粒径较大的纳米 CdSe I 组在精子质量及病理学改变方面要优于粒径较小的纳米 CdSe II 组, 从一定程度上反映了粒径是影响材料毒性的重要因素, 粒径小的纳米材料更易透过生物膜, 更容易和生物大分子反应。

纳米材料种类很多, 性质各不相同, 有必要从多角度对其安全性做进一步研究, 同时开发新型纳米颗粒有机物包覆技术, 降低纳米材料毒性, 为纳米材料的安全应用提供可靠

的依据。

参考文献:

[1] 姬艳丽, 刘萍, 刘显锋, 等. 青春期镉暴露对雄性小鼠睾丸发育及镉含量的影响 [J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21 (7): 1669-1671.

[2] 李清钊, 徐厚君, 郝玉兰, 等. 不同粒径纳米硒化镉对小鼠毒性研究 [J]. 毒理学杂志, 2011, 25 (4): 320.

[3] 李清钊, 徐厚君, 安海娟, 等. 不同粒径纳米硒化镉对小鼠肝肾功能毒性比较 [J]. 中国工业医学杂志, 2011, 24 (3): 202-204.

[4] Siu E R, Mruk D D, Porto C S, et al. Cadmium-induced testicular injury [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 238 (3): 240-249.

[5] De Souza Predes F, Diamante M A, Dolder H. Testis response to low doses of cadmium in Wistar rats [J]. Int J Exp Pathol, 2010, 91 (2): 125-131.